doi:10.3969/j.issn.1006－4931.2021.17.021

高效液相色谱法同时测定射麻口服液中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱含量

申丽莎[1],杨巧虹[2],杨 帆[3],邓开英[3],杨 堃[3△]

(1. 重庆市中药研究院,重庆 400061; 2. 重庆医疗器械质量检验中心,重庆 401147; 3. 重庆市食品药品检验检测研究院·重庆市药物过程与质量控制工程技术研究中心,重庆 401121)

摘要:目的 建立同时测定射麻口服液中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱含量的高效液相色谱法。**方法** 色谱柱为 Agilent Zorbax C_{18} 柱(150 mm×4.6 mm,5 μm),流动相 0.02 mol/L 磷酸二氢钾溶液(含 0.2% 三乙胺和 0.2% 磷酸)－乙腈(97∶3,*V*/*V*),流速为 1.2 mL/min,柱温为 30 ℃,检测波长为 210 nm,进样量为 10 μL。**结果** 盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱进样量分别在 0.101 9～1.274 5 μg、0.051 92～0.649 0 μg 范围内与峰面积线性关系良好(*r*=0.999 9,0.999 9,*n*=5);精密度、稳定性、重复性试验的 *RSD* 均小于 2.50%(*n*=5);平均加样回收率分别为 101.19% 和 98.91%,*RSD* 分别为 2.34% 和 2.59%(*n*=6)。**结论** 该方法简便快速,重复性好,可用于同时测定射麻口服液中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的含量。

关键词:射麻口服液;盐酸麻黄碱;盐酸伪麻黄碱;高效液相色谱法;含量测定

中图分类号:R932;R284.1;R286.0 **文献标志码:**A **文章编号:**1006－4931(2021)17－0079－04

Simultaneous Determination of Ephedrine Hydrochloride and Pseudoephedrine Hydrochloride in Shema Oral Liquid by HPLC

SHEN Lisha[1], YANG Qiaohong[2], YANG Fan[3], DENG Kaiying[3], YANG Kun[3]

(1. Chongqing Academy of Chinese Materia Medica, Chongqing, China 400061; 2. Chongqing Quality Testing and Inspection Center for Medical Devices, Chongqing, China 401147; 3. Chongqing Institute for Food and Drug Control·Chongqing Engineering Center for Pharmaceutical Process and Quality Control, Chongqing, China 401121)

Abstract: Objective To establish a high－performance liquid chromatography(HPLC) method for the simultaneous determination of ephedrine hydrochloride and pseudoephedrine hydrochloride in Shema Oral Liquid. **Methods** The chromatographic column was C_{18} column(150 mm×4.6 mm,5 μm), the mobile phase was 0.02 mol/L potassium dihydrogen phosphate solution(containing 0.2% triethylamine and 0.2% phosphoric acid)－acetonitrile(97∶3, *V*/*V*), the flow rate was 1.2 mL/min, the column temperature was 30 ℃, the detection wavelength was 210 nm, and the injection volume was 10 μL. **Results** The linear ranges of ephedrine hydrochloride and pseudoephedrine hydrochloride were 0.101 9－1.274 5 μg and 0.051 92－0.649 0 μg(*r*=0.999 9,0.999 9, *n*=5), respectively. The *RSD* of precision, stability and repeatability tests were less than 2.50%(*n*=5). The average recoveries of ephedrine hydrochloride and pseudoephedrine hydrochloride were 101.19% and 98.91% with *RSD*s of 2.34% and 2.59%(*n*=6), respectively. **Conclusion** The method is simple, rapid and reproducible, which can be used for the simultaneous determination of ephedrine hydrochloride and pseudoephedrine hydrochloride in Shema Oral Liquid.

Key words: Shema Oral Liquid; ephedrine hydrochloride; pseudoephedrine hydrochloride; HPLC; content determination

射麻口服液由麻黄、胆南星、射干、黄芩、醋五味子等 10 味药材经提取制成,具有清肺化痰、止咳平喘功效,临床主要用于外邪犯肺、入里化热所致的咳嗽、痰多稠黏,胸闷憋气,气促作喘,喉中痰鸣,发热或不发热,舌苔黄或黄白,或舌质红,脉弦滑或滑数等证[1]1469。方中麻黄为君药,发汗散寒,宣肺平喘,利水消肿[1]333。盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱为麻黄的主要有效成分,与射麻口服液疗效直接相关。射麻口服液原质量标准收载于《卫生部药品标准·新药转正标准(第十四册)》[2],仅对方中麻黄进行了含量控制,方法缺乏专属性,操作烦琐,重复性和准确性较差。参考文献[3－14],本研究中建立了同时测定射麻口服液中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱含量的高效液相色谱(HPLC)法。现报道如下。

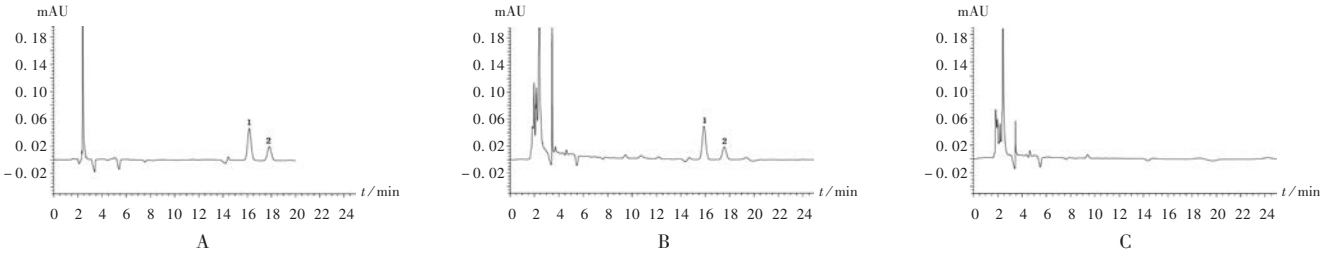
1 仪器与试药

1.1 仪器

Waters 2695 型高效液相色谱仪(美国沃特世仪器有限公司);BP211S 型电子天平(北京赛多利斯仪器有限公司,精度为十万分之一);Simplicity－185 型超纯水机(美国密理博公司)。

第一作者:申丽莎,女,大学本科,工程师,研究方向为中药质量控制,(电子信箱)shenlisa@163.com。

△**通信作者:**杨堃,女,大学本科,副主任中药师,研究方向为中药质量控制,(电子信箱)380608379@qq.com。



1. 盐酸麻黄碱 2. 盐酸伪麻黄碱

A. 混合对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照品溶液

图1 高效液相色谱图

1. ephedrine hydrochloride 2. pseudoephedrine hydrochloride

A. Mixed Reference solution B. Test solution C. Negative reference solution

Fig. 1 HPLC chromatograms

1.2 试药

盐酸麻黄碱对照品(批号为171241-201508,含量为99.8%),盐酸伪麻黄碱对照品(批号为171237-201510,含量为99.8%),均购于中国食品药品检定研究院;射麻口服液(海南中盛合美生物制药有限公司,批号分别为20180101,20180102,20180103,规格为每支10 mL);乙腈为色谱纯,水为超纯水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Agilent Zorbax C_{18}柱(150 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:0.02 mol/L磷酸二氢钾溶液(含0.2%三乙胺和0.2%磷酸)-乙腈(97∶3,*V*/*V*);流速:1.2 mL/min;检测波长:210 nm;柱温:30 ℃;进样量:10 μL。

2.2 溶液制备

取盐酸麻黄碱对照品0.012 77 g、盐酸伪麻黄碱对照品0.010 84 g,精密称定,分别置50 mL容量瓶中,加甲醇溶解并定容,摇匀,精密量取上述盐酸麻黄碱溶液5 mL、盐酸伪麻黄碱溶液3 mL,置同一25 mL容量瓶中,加甲醇-浓氨试液(95∶5,*V*/*V*)混合溶液稀释至刻度,摇匀,即得混合对照品溶液。取样品适量,混匀,精密量取5 mL,置50 mL容量瓶中,加0.1 mol/L盐酸溶液定容,摇匀,滤过,精密量取续滤液5 mL,加在依次用甲醇、水各6 mL预洗的Waters OSIS MCX固相小柱[以混合型阳离子交换反相吸附剂为填充剂的固相萃取柱(规格为6 mL/150 mg,30 μm)]上,依次用0.1 mol/L盐酸溶液、甲醇各6 mL洗涤,弃去洗涤液,继续用新鲜配制的甲醇-浓氨试液(95∶5,*V*/*V*)混合溶液6 mL洗脱,收集洗脱液,置5 mL容量瓶中定容,摇匀,用0.45 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,即得供试品溶液。按处方比例和制备工艺制备不含麻黄的阴性样品,按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。

2.3 方法学考察

专属性试验:精密量取2.2项下3种溶液各10 μL,按2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图,理论板数按盐酸麻黄碱色谱峰计均不低于5 000。色谱图见图1。供试品溶液色谱中,盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱色谱峰均能达到基线分离,峰形对称,分离度良好,阴性对照无干扰,表明方法专属性良好。

线性关系考察:分别精密吸取2.2项下混合对照品溶液2,5,10,15,20,25 μL,按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以进样量(*X*,μg)为横坐标、峰面积积分值(*Y*)为纵坐标进行线性回归,得回归方程 $Y_{麻}=2\times10^{6}X_{麻}-14\,789$($r=0.999\,9$),$Y_{伪}=2\times10^{6}X_{伪}-22\,777$($r=0.999\,9$,$n=6$)。结果表明,盐酸麻黄碱与盐酸伪麻黄碱进样量分别在0.101 9~1.274 5 μg、0.051 92~0.649 0 μg范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验:精密吸取2.2项下混合对照品溶液10 μL,连续进样测定5次,记录峰面积。结果盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱峰面积的*RSD*分别为0.89%和0.86%($n=5$),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取新制备的同一供试品溶液,分别于室温下放置0,2,4,8,12 h时进样10 μL,记录峰面积。结果盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱峰面积的*RSD*分别为1.17%和0.96%($n=5$),表明供试品溶液在室温下放置12 h内稳定。

重复性试验:取同一批(批号为20180102)样品适量,混匀,分别按2.2项下方法制备供试品溶液,共5份,按2.1项下色谱条件进样测定。结果盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱含量的*RSD*分别为2.29%和2.42%($n=5$),表明方法重复性良好。

加样回收试验:精密量取已知含量的样品(批号为20180102)3 mL,共6份,分别置50 mL容量瓶中,加入混合对照品溶液,依法制备供试品溶液,按2.1项下色谱条件进样测定,计算加样回收率。结果见表1。

2.4 样品含量测定

取3批(批号分别为20180101,20180102,20180103)样品,依法制备供试品溶液,按2.1项下色谱条件分别进样测定2次,计算含量,取平均值。结果见表2。

表 1 加样回收试验结果（$n=6$）

Tab. 1 Results of the recovery test（$n=6$）

样品含量(mg)		加入量(mg)		测得量(mg)		回收率(%)		$\bar{X}$(%)		RSD(%)	
A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
1.740 0	0.690 0	0.940 2	0.317 4	2.686 0	0.998 5	100.62	97.20	101.19	98.91	2.34	2.59
1.740 0	0.690 0	0.940 2	0.317 4	2.720 3	1.016 2	104.26	102.77				
1.740 0	0.690 0	1.880 4	0.634 8	3.690 4	1.332 9	103.72	101.28				
1.740 0	0.690 0	1.880 4	0.634 8	3.635 8	1.308 5	100.82	97.43				
1.740 0	0.690 0	2.820 6	0.952 2	4.545 9	1.628 2	99.48	98.53				
1.740 0	0.690 0	2.820 6	0.952 2	4.510 6	1.606 7	98.23	96.27				

注：A 为盐酸麻黄碱，B 为盐酸伪麻黄碱。

Note：A is ephedrine hydrochloride，B is pseudoephedrine hydrochloride.

表 2 样品含量测定结果（mg/mL，$n=2$）

Tab. 2 Results of content determination of ephedrine hydrochloride and pseudoephedrine hydrochloride in the samples（mg/mL，$n=2$）

批号	盐酸麻黄碱	盐酸伪麻黄碱
20180101	0.50	0.21
20180102	0.57	0.24
20180103	0.56	0.23

3 讨论

对测定麻黄碱常用流动相（1）乙腈 - 0.1% 磷酸溶液、流动相（2）乙腈 - 0.1% 磷酸溶液（含 0.1% 三乙胺）和流动相（3）乙腈 - 0.02 mol/L 磷酸二氢钾溶液（含 0.2% 三乙胺和 0.2% 磷酸）进行预试验[3-14]，结果均能使射麻口服液样品中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱色谱峰达到基线分离，阴性对照无干扰，但流动相（1）峰形拖尾严重；流动相（2）因三乙胺的加入，峰形尖锐对称，保留时间不稳定，随检测时间的延长会越来越快；流动相（3）不仅峰形尖锐对称，且保留时间稳定，故最终选定流动相（3）。

参照 2015 年版《中国药典（一部）》麻黄药材含量测定项下检测波长 210 nm，同时记录 214 nm 波长下色谱峰情况，结果 2 个波长下盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱响应均良好，色谱峰峰形对称，阴性对照无干扰，但 210 nm 波长处响应更灵敏，故选择 210 nm 为测定波长。经二极管阵列检测器检测，样品中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱色谱峰分别与盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱对照品紫外可见分光光谱图一致。

采用以混合型阳离子交换反相吸附剂为填充剂的固相萃取柱（Waters OSIS MCX）对样品进行净化处理来制备供试品溶液，简单快速，有机溶剂消耗少，利于环保和批量检测。研究过程中对固相柱吸附目标检测成分的能力、0.1 mol/L 盐酸和甲醇洗涤情况及甲醇 - 浓氨溶液（95∶5，V/V）混合液洗脱能力进行了考察，确定了供试品溶液的制备方法。

曾将样品加氨水碱化（pH 11.5）后用乙醚提取，合并乙醚提取液，再用 0.1 mol/L 盐酸溶液提取，合并盐酸提取液，加 0.1 mol/L 盐酸溶液定容后作为供试品溶液，按 2.1 项下色谱条件进样测定，结果样品中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱色谱峰达到基线分离，峰型尖锐对称，阴性对照无干扰，但供试品溶液制备方法烦琐，乙醚用量较多，液液提取过程中乳化严重，需高速离心分层，故未采用。

采用 3 支不同品牌的色谱柱和 2 个不同厂家的液相色谱仪对供试品溶液进行了检测，结果样品中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱色谱峰均达到基线分离，色谱效果和含量测定结果一致，方法耐用性良好。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典（一部）[M]. 北京：中国医药科技出版社，2020.

[2] WS_3-123(Z-020)-97(Z)，卫生部药品标准·新药转正标准（第十四册）[S].

[3] 潘 伟，赵 悦，谢 扬. HPLC 测定万通筋骨片中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的含量[J]. 海峡药业，2017，29(5)：56-58.

[4] 邱 燕. HPLC 法测定防风通圣颗粒中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱含量[J]. 海峡药业，2018，30(1)：75-77.

[5] 陆仕华，李丹凤，黄兴振. 高效液相色谱法测定小儿复方麻黄碱桔梗糖浆中盐酸麻黄碱含量[J]. 中国药业，2016，25(7)：56-58.

[6] 庄爱爱，刘永利，赵振霞，等. 双波长 HPLC 法同时测定麻杏止咳糖浆中 5 个成分含量[J]. 药物分析杂志，2018，38(5)：883-888.

[7] 周 军，陈 卓，张 茉，等. HPLC 法测定半夏糖浆中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的含量[J]. 天津药学，2019，31(5)：17-21.

[8] 黎春彤，李 翔，马建丽，等. HPLC 同时测定防风通圣丸中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的含量[J]. 药物分析杂志，2016，36(1)：176-180.

[9] 钟建青，傅 超，袁 航，等. HPLC 法测定乙肝扶正胶囊中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的含量[J]. 中国药品标准，2019，20(6)：515-520.

[10] 彭 玲，朱倩云，张 洁，等. HPLC 法测定小儿咳喘灵中麻黄